

高效液相色谱法测定化妆品中的对甲苯磺酸异丙酯及 GC/MS 确证

曾苑, 陈悦铭, 黄少瑶, 李仲唐, 叶晓争

(广州质量监督检测研究院, 广东 广州 511447)

摘要: 建立了测定化妆品中对甲苯磺酸异丙酯的高效液相色谱分析方法。样品经乙腈超声萃取, 样品提取液高速离心处理, 取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜, 经菲罗门 SuperLu C18 (250 × 4.6 mm 5 μm) 色谱柱分离后, 以保留时间和紫外吸收光谱定性, 外标法定量, GC-MS 确证。结果表明, 在优化条件下, 对甲苯磺酸异丙酯在 0.1 ~ 10 μg · mL⁻¹ 的质量浓度范围内呈良好的线性范围 (R² = 0.9999), 方法的检出限为 1.0 μg · g⁻¹, 在 1.00, 2.00, 10.00 μg · g⁻¹ 3 个水平下的回收率为 95.2% ~ 101.2%, 相对标准偏差为 1.2% ~ 2.1%。该方法准确有效, 适用于化妆品样品中对甲苯磺酸异丙酯的测定。

关键词: 对甲苯磺酸异丙酯; 高效液相色谱法; 化妆品

中图分类号: O657.7+2

文献标识码: A

文章编号: 1008-021X(2019)05-0104-03

DOI:10.19319/j.cnki.issn.1008-021x.2019.05.038

Determination of Isopropyl p-toluenesulfonate in Cosmetics by High Performance Liquid Chromatography and Confirmed by GC/MS

Zeng Yuan, Chen Yueming, Huang Shaoyao, Li Zhongtang, Ye Xiaozheng

(Guangzhou Institute of Quality Supervision and Inspection, Guangzhou 511447, China)

Abstract: A high performance liquid chromatographic (HPLC) method was established for the determination of Isopropyl p-toluenesulfonate (IPTS) in cosmetics. The samples were ultrasonically extracted with acetonitrile solution, then centrifuged at high speed and filtered through 0.22 μm micro porous membrane filter, separated on an SuperLu C18 (250 × 4.6 mm 5 μm) column and detected by HPLC with a diode array detector. The retention time and UV absorption spectra were adopted for qualification and the external standard method was used for quantitation. The positive cosmetic samples were confirmed by GC/MS method. The analyte presented good linearities in the range of 0.1 ~ 10 μg · mL⁻¹ (R² = 0.9999), the detection limit of the method were found to be 1.0 μg · g⁻¹. The recoveries (n = 6) at 3 levels of 1.00, 2.00, and 10.00 μg · g⁻¹ were ranged from 95.2% ~ 101.2% and the relative standard deviations (RSD, n = 6) were in the range of 1.2% ~ 2.1%. This method is applicable for analyses of trace levels of IPTS in cosmetics and has the advantage of using only simple sample preparation steps.

Key words: isopropyl p-toluenesulfonate (IPTS); high performance liquid chromatography (HPLC); cosmetics

棕榈酸异丙酯和肉豆蔻酸异丙酯是广泛用于医药及化妆品的制造原料, 对甲苯磺酸异丙酯是棕榈酸或肉豆蔻酸在与异丙醇酯化反应制备棕榈酸异丙酯和肉豆蔻酸异丙酯过程中, 对甲苯磺酸作为反应催化剂的同时, 也会与异丙醇发生酯化反应, 产生对甲苯磺酸异丙酯这种基因毒性的副产物。欧洲药品管理局 (EMA)、美国食品药品监督管理局 (FDA) 发布的基因毒性杂质限度指南的最终版^[1]、基因毒性杂质指南草案^[2]都对对磺酸酯类物质的基因毒性做出了明确的规定。目前, 对于对甲苯磺酸异丙酯文献报道主要集中在其应用^[3]、药品中的检测^[4-5], 尚无关于化妆品中对甲苯磺酸异丙酯含量测定的方法文献报道。本文采用高效液相色谱法建立了化妆品中对甲苯磺酸异丙酯的检测方法。图 1、图 2 分别是对甲苯磺酸异丙酯的化学结构

式, 对甲苯磺酸和异丙醇反应生成对甲苯磺酸异丙酯的过程。

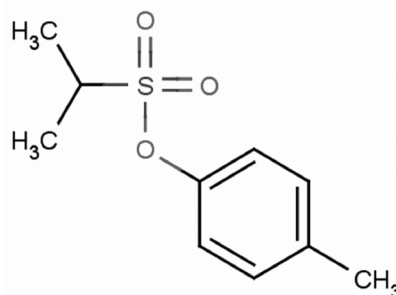


图 1 对甲苯磺酸异丙酯的化学结构式

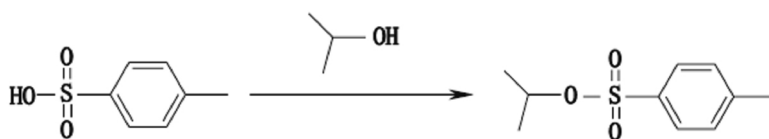


图 2 对甲苯磺酸异丙酯的形成过程

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

1260 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); Agilent 7890A -

5975C 气相色谱-质谱联用仪, 菲罗门 SuperLu C18 (250 × 4.6 mm 5 μm) 色谱柱; BSA224S - CW 电子天平 (德国 SARTORIUS 公司); 2600TH 超声波清洗器 (上海安谱科学仪器有限公司); AllegraX - 30R 高速离心机 (美国 BECKMAN COULTER 公司)。

收稿日期: 2018 - 12 - 10

作者简介: 曾苑 (1990-), 女, 广东五华人, 质量助理工程师, 从事轻工类产品的标准与质量安全工作。

对甲苯磺酸异丙酯对照品 (CAS: 2307-69-9, 北京百灵威科技有限公司, 含量: 90.0%); 乙腈 (色谱纯, 美国 Fisher Chemical 公司); 溴化四丁基铵 (分析纯, 广州化学试剂厂); 0.22 μm 有机相微孔滤膜 (上海安谱实验科技股份有限公司); 实验室用水为 Milli-Q 超纯水。

1.2 标准溶液的配制

称取 0.0100 g 对甲苯磺酸异丙酯标准物质用乙腈定容至 100 mL 容量瓶中, 溶液浓度为 $0.10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。分别吸取 10、50、100、200、500、1000 μL 的对甲苯磺酸异丙酯标准溶液至 10 mL 容量瓶中, 用 $5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸四丁基溴化铵 (pH 值 = 4.0) 溶液: 乙腈 (50:50) 定容, 得到浓度分别为 0.1、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对甲苯磺酸异丙酯标准溶液, 于 4°C 下储存备用。

1.3 样品的前处理

称取样品 0.5 g (准确至 0.01 g) 于 15 mL 离心管中, 加入 5 mL 乙腈, 涡旋振荡混匀后超声提取 10 min, 再用离心机 $10000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 3 min, 取上清液过 0.22 μm 有机相微孔滤膜于进样瓶中待测备用。

1.4 高效液相色谱条件

色谱柱: 菲罗门 SuperLu C18 (250 \times 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相: $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸四丁基溴化铵 (pH 值 = 3.0) 溶液: 乙腈 = 50:50; 进样量为 10 μL ; 流速为 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 时间为 15 min; 柱温为 30°C ; 测定波长 230 nm。分别对待测液进行测定。

1.5 GCMS 确证条件

色谱条件: 色谱柱: 毛细管柱 (HP-5 30 m \times 0.32 mm \times 0.25 μm), 固定相为 5% 苯基-甲基聚硅氧烷; 载气: 氦气; 流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 程序升温: 起始温度为 100°C , 维持 1 min, 以 $20^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速率升温至 200°C , 维持 10 min, $20^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 240°C , 保持 1 min; 进样口温度: 220°C ; 分流比 10:1; 进样体积: 1.0 μL ; 溶剂延迟 4 min。

质谱条件: 离子源参数: 电子轰击电离源 (EI 源), 电子能量为 80 eV, 离子源温度为 250°C 。扫描模式: 选择离子扫描, 目标化合物对甲苯磺酸异丙酯的选择离子 (m/z) (91、172、214)。

2 结果与讨论

2.1 萃取溶剂的选择

对比考察了乙腈、乙酸乙酯、甲醇对化妆品中的对甲苯磺酸异丙酯的提取效果, 加标浓度为 $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 回收率结果见表 1。结果表明, 三者都有不错的提取效率, 但乙酸乙酯与某些水包油型的膏霜类产品不互溶适用性较差, 以乙腈作为提取溶剂时, 杂质干扰最少, 故选用乙腈为萃取溶剂。

表 1 不同溶剂提取 3 种基质化妆品中对甲苯磺酸异丙酯的回收率

提取溶剂	回收率 R/%		
	膏霜类	乳类	蜡基类
乙腈	98.5	97.2	99.6
乙酸乙酯	95.2	93.3	94.8
甲醇	97.8	96.2	93.7

2.2 检测波长的选择

取 $10.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对甲苯磺酸异丙酯标准溶液在选定波长 215、230、254 和 280 nm 进行测定, 获得对甲苯磺酸异丙酯的色谱图和光谱图, 通过比较得出, 对甲苯磺酸异丙酯在 230 nm 处有最大吸收波长, 故选定本次实验检测波长为 230 nm。对甲苯磺酸异丙酯标准溶液光谱图见图 3。

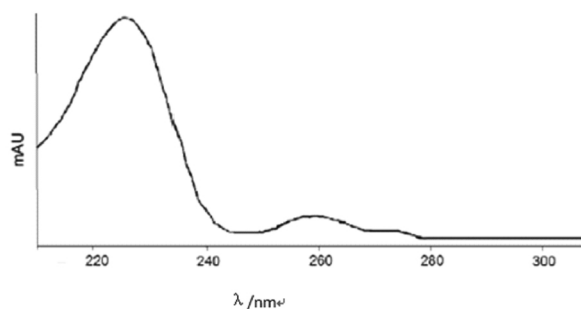


图 3 对甲苯磺酸异丙酯吸收光谱图

2.3 色谱柱的选择

经查 ACD/Lab, 对甲苯磺酸异丙酯的 ACD/Log P 值为 2.18, Log P 值是油水分配系数, Log P 值越大, 说明该物质越亲脂, 反之, 越小, 则越亲水, 即水溶性越好。由此可知对甲苯磺酸异丙酯的非极性大于极性, 本次实验选用菲罗门 SuperLu C18 (250 \times 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, SuperLu 的硅胶基质纯度达 99.999%, 硅烷基键合于硅胶表面, 使其具有适中的疏水性以及亚甲基选择性, 非极性端基封尾有效减少分析物与残留硅醇基的作用, 分析非极性化合物的有最大保留作用。色谱图见图 4。

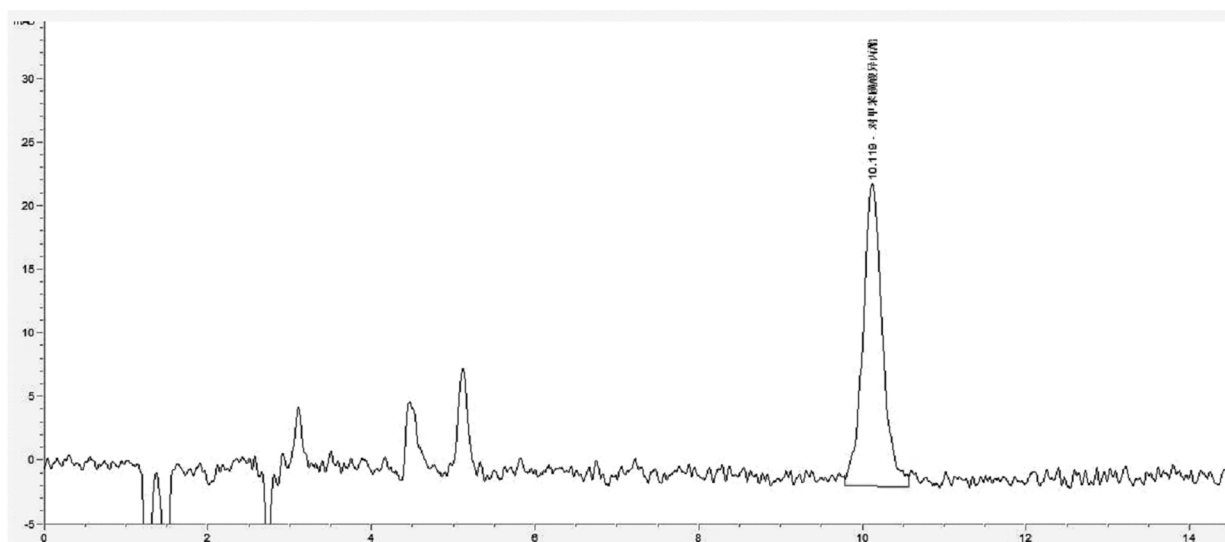


图 4 对甲苯磺酸异丙酯标准溶液液相色谱图

2.4 流动相的选择

对甲苯磺酸异丙酯含有磺酸基(-SO₃H),不仅是酸性官能团,也是可离子化的官能团,而在反相色谱中,样品的保留情况和其官能团的离子化状态关系密切,中性态和离子态之间的保留时间往往可以有高达30倍的差异。酸性条件(低pH值)有利于酸性分析物的保留,而碱性条件有利于碱性分析物的保留。因此,本次实验使用了不同比例的5 mol·L⁻¹磷酸四丁基溴化(pH值=3.0)溶液-乙腈(90:10),(70:30),(50:50)进行试验,结果发现在5 mol·L⁻¹磷酸四丁基溴化(pH值=3.0)溶液-乙腈(50:50)时,实现基线分离的同时可保持很好的峰形,故选用5 mol·L⁻¹磷酸四丁基溴化(pH值=3.0)溶液-乙腈(50:50)为本次实验的流动相。

3 方法学验证

3.1 线性范围与检出限

本方法研究校准曲线范围时,考察0.1~10 μg·mL⁻¹的线性宽度。配制浓度为0.1、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 μg·mL⁻¹的标准溶液。实验结果表明,在0.1~10 μg·mL⁻¹的范围内对甲苯磺酸异丙酯具有良好的线性关系,以浓度为横坐标X轴,以峰面积为纵坐标Y轴,得到线性方程 $y = 23.28x - 0.171$,相关系数为0.9999。在本实验条件下,向空白样品中添加一系列浓度的对甲苯磺酸异丙酯标准溶液,根据仪器的灵敏度和样品处理步骤中稀释倍数,最终确定本方法检出限为如下:当称样量为0.5 g,定容体积为5 mL时,对甲苯磺酸异丙酯的检出限为1.0 μg·g⁻¹。

3.2 方法的回收率与精密度

选取具有代表性的膏霜类、乳液类和蜡基类阴性化妆品样

品分别进行3个水平(方法检出限、2倍方法检出限、10倍方法检出限)的加标回收实验,6次平行实验的结果见表2。在加标浓度范围内,化妆品中的对甲苯磺酸异丙酯平均回收率为95.2%~101.2%,精密度RSD为1.2%~2.1%;加标回收率和精密度实验结果符合GB/T27404-2008《实验室质量控制规范食品理化检测》的要求,方法具有准确可靠性和稳定可靠性^[6]。

表2 对甲苯磺酸异丙酯加标回收实验测定结果

基质	添加量/(μg·g ⁻¹)	平均回收率/%	精密度 RSD/%
膏霜类	1.0	95.8	1.2
	2.0	96.3	1.4
	10.0	98.7	1.5
乳液类	1.0	96.1	1.5
	2.0	96.8	1.9
	10.0	99.8	1.8
蜡基类	1.0	95.2	1.6
	2.0	99.2	1.9
	10.0	101.2	2.1

3.3 GCMS法确证

由于化妆品的种类繁多,基质也各不相同,而液相色谱在定性方面存在不足,为避免假阳性样品的出现,本研究建立了对甲苯磺酸异丙酯GCMS确证方法。对于阳性样品或疑似阳性样品进行确证实验,以保证检测结果的准确性。确证条件见“1.5”阴性样品加标浓度5 μg·g⁻¹时的质谱图见图5。

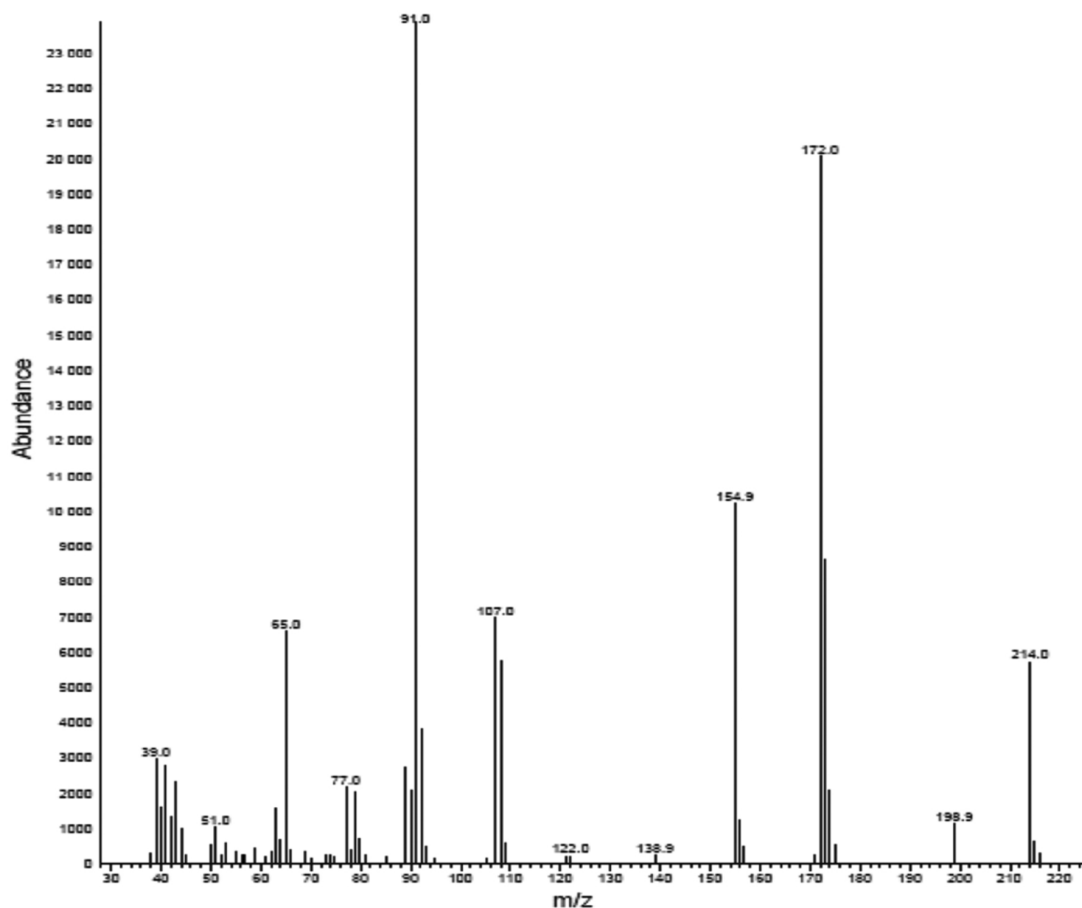


图5 对甲苯磺酸异丙酯阴性样品加标浓度5 μg·g⁻¹时的提取离子质谱图

(下转第110页)

平均电势能密度相等。同时硼硼体系重叠部分的电势能与重叠部分体积的比率仍为 φ 。倘若直接计算重叠部分电势能是极为复杂的,因而可以用等效质点 p 表示硼硼体系重叠部分电势能。图 1 中 P 点表示重叠部分的等效质心,在距离硼原子核 0.795 \AA (硼硼体系键长的一半) 处。同时,由于 p 点离硼原子原子核的距离不是 0.94 \AA , 而为 0.795 \AA , 故 P 点电势能会发生变化,则等效质心处的电势能与硼硼键键能的关系为:

$$E_1 = De \times \frac{\frac{1}{2}Re}{R_0} \quad (4)$$

式中, De 为硼硼键键能, Re 为硼硼体系核间距, $Re = 1.590 \text{ \AA}$; $R_0 = 0.94 \text{ \AA}$

由于硼原子总的电势能为:

$$k \frac{Qq}{R_0} = 76.596eV \quad (5)$$

依据平均电势密度相等可以得到计算硼硼键键能方程式:

$$\frac{E_1}{V_1} = \frac{De}{V_1} \times \frac{\frac{1}{2}Re}{R_0} \quad (6)$$

$$\frac{E}{V} = \frac{76.596eV}{\frac{4}{3}\pi R_0^3} \quad (7)$$

将(3)式代入(6)式,然后将(6)式和(7)式联立,我们可以得到关于硼硼键键能的理论方程式,即:

$$\frac{76.596eV}{\frac{4}{3}\pi R_0^3} = \frac{De}{2\pi h^2 \left(R - \frac{h}{3}\right)} \times \frac{\frac{1}{2}Re}{R_0} \quad (8)$$

进而可以得到求解硼硼键键能的理论方程式:

$$De = \frac{76.596eV}{\frac{4}{3}\pi R_0^3} \times \frac{R_0}{\frac{1}{2}Re} \times 2\pi h^2 \left(R_0 - \frac{h}{3}\right) \quad (9)$$

将 $R_0 = 0.94 \text{ \AA}$; $Re = 1.590 \text{ \AA}$; $h = 0.94 - 0.795 = 0.145 \text{ \AA}$ 代入(12)式,则硼硼键键能计算值为 $De = 294 \text{ kJ/mol}$ 。

实验值为 $290 \text{ kJ/mol}^{[7]}$, 理论计算值与实验值较好的吻合。

3 结果与讨论

(上接第 106 页)

3.4 实际样品的检测

为验证方法的实用性,采用本方法对从广州市场购买的 40 种护肤品样品进行分析。试验结果表明,所有化妆品样品均未检测出本研究所分析的对甲苯磺酸异丙酯。

4 结论

建立了化妆品中对甲苯磺酸异丙酯的高效液相色谱检测法和 GCMS 确证方法,优化了色谱分离条件和样品前处理条件,最终选择乙腈溶液进行提取,菲罗门 SuperLu C18 (250 × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱等度洗脱。结果显示,该方法的加标回收率(95.2% ~ 101.2%)和精密度(1.2% ~ 2.1%)良好,目标化合物的方法检出限为 $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。该方法前处理简单、适用性好,有利于化妆品中对甲苯磺酸异丙酯残留情况的监测,可为生产企业把控产品质量提供科学依据和技术支持。

参考文献

[1] Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Guideline on the limits of genotoxic impurities [M]. London: European Medicines Agency, Evaluation of Medicines for Human Use 2006.
[2] Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance

目前认为宏观理论不能解决原子激发态、光谱、各种轨道(s、p、d、f)的差异、轨道杂化、 π 键及共轭键等物质结构中的各种问题。然而,笔者将氢分子键能与其结构之间存在的联系推广到硼硼体系,假定硼硼体系成键的微观机理与氢分子成键的微观机理完全一致,即两个原子转变为硼硼体系后,硼硼体系中重叠部分平均电势能密度与未重叠前硼原子平均电势能密度相等。将氢分子成键模型进行推广,类比得到硼硼体系结构和键能之间的关系,推导出关于硼原子半径、硼硼体系键长以及键能的方程式。计算得到硼硼键键能的理论值为 294 kJ/mol , 计算值与实验值较好的吻合。同时,用该方法对硼硼键键能的计算,计算方法非常简单,各物理参数意义极为明确,计算过程中不含有任何人为定义参数,所得到的计算值和实验值很好的吻合。它表明一些原子的键能采用宏观方法完全可以较好的解决,暗示着原子的空间运动、分子的结构及能量传递可能还存在一些新的规律。

参考文献

[1] 潘道皓,赵成大,郑载兴. 物质结构 [M]. 北京:高等教育出版社,1987:159-176.
[2] Kauzman W. Quantum Chemistry [M]. New York: Academic Press Inc,1957:376-382,440-445.
[3] 何帅,侯秀芳. 计算氢分子键能的一种新方法 [J]. 广州化工 2018(5):30-32.
[4] 何帅,高晓明. 氢分子键长、键能的精确计算 [J]. 山东化工 2018(13):52-53,55.
[5] 何帅,高晓明. 计算氢分子离子键能的一种新方法 [J]. 山东化工 2018(16):139-140.
[6] 何帅,李鑫盛,高晓明. 计算碳碳单键键能的一种新方法 [J]. 广州化工 2018(19):25-26.
[7] 罗渝然. 化学键能数据手册 [M]. 北京:科学出版社,2004:289.

(本文文献格式:何帅,张腾飞,邓懿程,等. 近似计算 B_2 键能的一种新方法 [J]. 山东化工 2019,48(5):109-110.)

for industry, genotoxic and carcinogenic impurities in drug substances and products: recommended approaches [M]. United States Food and Drug Administration: Pharmacology and Toxicology 2008.

[3] 韩立亚,刘伟,刘红莉,等. 对甲苯磺酸催化合成咖啡酸丙酯的研究 [J]. 河南工业大学学报(自然科学版) 2014,35(5):40-44.
[4] 江凡,张炎,林晓燕,等. 高效液相色谱法测定布林佐胺中对甲苯磺酸异丙酯 [J]. 医药导报,2018,37(7):882-885.
[5] 李靖坤,王珊珊,林云良,等. 气相色谱-质谱联用法测定对甲苯磺酸脂类基因毒性杂质的方法学验证 [J]. 当代化工,2017,46(2):378-380.
[6] 全国认证认可标准化技术委员会 (SAC/TC 261). GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测 [S]. 北京:中国标准出版社,2008.

(本文文献格式:曾苑,陈悦铭,黄少瑶,等. 高效液相色谱法测定化妆品中的对甲苯磺酸异丙酯及 GCMS 确证 [J]. 山东化工 2019,48(5):104-106,110.)